

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/KR2006/001077

International filing date: 23 March 2006 (23.03.2006)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: KR
Number: 10-2005-0052880
Filing date: 20 June 2005 (20.06.2005)

Date of receipt at the International Bureau: 10 April 2006 (10.04.2006)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office

출 원 번 호 : 특허출원 2005년 제 0052880 호
Application Number 10-2005-0052880

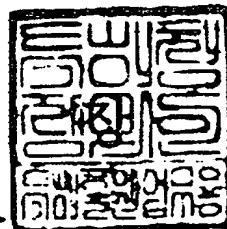
출 원 일 자 : 2005년 06월 20일
Date of Application JUN 20, 2005

출 원 인 : 김영호
Applicant(s) kim young ho

2006 년 03 월 29 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】 특허출원서

【권리구분】 특허

【수신처】 특허청장

【제출일자】 2005.06.20

【발명의 국문명칭】 세포 혼합액 층에 자력을 인가하여 세포를 분리하는 장치
및 방법

【발명의 영문명칭】 Apparatus and method for separating cells using magnets
and cell suspension layer

【출원인】

【성명】 김영호

【출원인코드】 4-2005-023434-1

【발명자】

【성명】 김영호

【출원인코드】 4-2005-023434-1

【취지】 특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다.

출원인

김영호 (인)

【수수료】

【기본출원료】	0 면	38,000 원
【가산출원료】	24 면	0 원
【우선권주장료】	0 건	0 원
【심사청구료】	0 항	0 원
【합계】		38,000 원
【감면사유】	개인(70%감면)	
【감면후 수수료】		11,400 원

【요약서】

【요약】

이 발명은 분리하고자 하는 특정 세포가 혼합되어 있는 세포 혼합액 층에 자력을 가해 대량의 세포를 안정적이고 효율 높게 분리할 수 있는 장치의 제공을 목적으로 한다.

상기의 목적을 달성하기 위해 이 발명은, 자력 인가 수단이 상측면에 설치되는 상판부와, 상기 상판부와 일정 거리를 두고 하부에 위치하며, 상측면에 분리하고자 하는 마그네틱 비드가 결합된 특정 세포가 혼합되어 있는 세포 혼합액을 수용하는 세포 혼합액 수용부를 구비하는 하판부와, 상기 하판부에 결합되어, 하판부를 상판부로 다가가게 상부로 이동시키거나 또는 상판부에서 멀어지게 하부로 이동시키는 하판부 이동수단 및, 상기 하판부 이동 수단을 세포 혼합액 층이 형성되게 하판부를 상판부에 다가가도록 제어하는 한편, 상기 하판부 이동 수단을 세포 혼합액 층에 상기 자력 인가 수단에서 인가되는 자력에 의해 상기 특정 세포가 세포 혼합액 층의 상부로 이동되면서 이와 함께 중력에 의해 세포 혼합액 층의 하부로 이동된 특정 세포 이외의 나머지를 특정 세포로부터 완전히 분리되게 하판부를 다시 상판부에서 멀어지도록 제어하는 제어부를 포함한다.

【대표도】

도 3d

【명세서】

【발명의 명칭】

세포 혼합액 층에 자력을 인가하여 세포를 분리하는 장치 및 방법{Apparatus
and method for separating cells using magnets and cell suspension layer}

【도면의 간단한 설명】

- <1> 도 1a 내지 도 1d는, 종래 물방울 형태의 세포 혼합액에 자력을 인가하여 마그네틱 비드가 결합된 특정 세포를 분리하는 과정을 개념적으로 도시한 것이고,
- <2> 도 2는, 이 발명의 실시 예에 따른 세포 혼합액 층에 자력을 인가하여 마그네틱 비드가 결합된 특정 세포를 분리하는 장치를 개략적으로 도시한 것이고,
- <3> 도 3a 내지 도 3f는, 도 2의 장치를 사용하여 세포 혼합액으로부터 특정 세포를 분리하는 과정을 개념적으로 도시한 것이다.

- | | | |
|------|------------------------------|---------------------|
| <4> | <도면의 주요 부분에 대한 부호의 설명> | |
| <5> | 10 : 이 발명의 실시 예에 따른 세포 분리 장치 | |
| <6> | 11 : 상판부 | 12 : 하판부 |
| <7> | 13 : 자석 | 14 : 세포 혼합액 수용 경계 띠 |
| <8> | 15 : 세포 혼합액 수용 홈 | 16 : 하판부 이동 수단 |
| <9> | 17 : 제어부 | 18 : 챔버 |
| <10> | 20 : 세포 혼합액 | 21 : 특정 세포 |

<11> 22 : 마그네틱 비드

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<12> 이 발명은 세포를 분리하는 장치 및 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 마그네틱 비드(magnetic beads)가 결합된 특정 세포가 혼합되어 있는 세포 혼합액 중에 자력을 인가하여 특정 세포만을 분리하는 장치 및 방법에 관한 것이다.

<13> 종래 마그네틱 비드가 부착된 특정 세포가 혼합되어 있는 세포 혼합액에 자력을 인가하여 특정 세포만을 분리하기 위해 널리 사용되어지고 있는 튜브형 세포 분리 장치는, 그 내부에 페라이트로 이루어진 쇠구슬을 다량 구비하고, 여기에 항원 항체 반응을 이용하여 마그네틱 비드가 부착된 상태의 특정 세포가 혼합된 세포 혼합액을 중력 방향으로 투입하면서 자력을 인가함으로써, 자성을 띄는 상자성 체인 쇠구슬에 상기 특정세포들이 달라붙게 하고 상기 특정세포 이외의 나머지는 중력 방향으로 빠져나가게 하여 필요로 하는 특정 세포를 분리해 낸다.

<14> 그러나, 상기 튜브형 세포 분리 장치를 사용하여 다양한 크기의 세포를 분리하는 경우, 상기 쇠구슬들의 크기에 따라 공극의 크기도 달라지기 때문에 사용되는 쇠구슬들의 크기도 빈번하게 바뀌어야 하는 문제점이 있게 된다.

<15> 또한, 상기에서 분리하고자 하는 특정 세포들이 쇠구슬들에 직접 접촉하기

때문에 흡착이 발생하게 되며, 세포가 응집되는 경우 쇠구슬 간의 공극을 통과하는 도중 막힐 수 있기 때문에 사용자가 분리 과정 중에 계속적으로 피펫을 이용하여 균질 화시켜 주어야 하는 문제점도 있게 된다.

<16> 상기와 같은 문제점들을 해결하기 위해, 도 1a 내지 도 1d에 도시되어 있는 바와 같이, 마그네틱 비드가 결합된 특정 세포가 수용액과 혼합되어 있는 세포 혼합액을 물방울 형태의 세포 혼합액으로 생성시키고, 여기에 자력을 인가하여 특정 세포와 그 이외의 나머지로 구분 지은 후 버퍼 수용액만을 별도로 상기 물방울 형태의 세포 혼합액에 추가 공급하여 특정 세포이외의 나머지를 중력에 의해 완전히 분리시킨 상태에서 특정 세포를 채취하는, 종래 튜브형 세포 분리 장치에 비해 쇠구슬과 같은 컬럼(column) 층 없이 간단한 구조와 공정의 단순화를 실현한, 물방울 형태의 세포 혼합액을 이용한 세포 분리 방법이 본 발명자 등에 의해 제안되었다.

<17> 그러나, 상기 물방울 형태의 세포 혼합액을 이용한 세포 분리 방법은, 상기 물방울 형태의 세포 혼합액의 하부가 공기에 노출된 상태이므로 미세한 주변 공기의 흐름에도 내부의 특정 세포 이외의 나머지가 요동을 치면서 외란이 발생하게 되며, 또한 도 1c에 도시되어 있는 바와 같이, 분리하고자 하는 특정 세포 이외의 나머지를 제거하기 위해 버퍼 수용액만을 추가 주입하는 과정에서 하부에 있던 특정 세포 이외의 나머지중 일부가 다시 상부의 특정 세포 쪽으로 이동하여 분리 효율이 낮아지는 문제점이 있게된다.

<18> 더욱이, 상기 물방울 형태의 세포 혼합액을 이용한 세포 분리 방법은, 물

방울 형태를 유지하면서 특정 세포의 분리를 수행하므로 분리되어지는 양이 생성되는 물방울의 범위 내로 한정되어 대량의 세포를 분리하는데는 한계가 있었다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<19> 이와 같은 상기의 문제점들을 해결하기 위해 이 발명은, 상판부와 하판부 사이에 분리하고자 하는 특정 세포가 혼합되어 있는 세포 혼합액 층을 형성시키고 상판부 측에서 자력을 가해 대량의 세포를 안정적이고 효율 높게 분리할 수 있는 장치 및 방법의 제공을 그 목적으로 한다.

【발명의 구성】

<20> 상기의 목적을 달성하기 위해 이 발명의 세포 분리 장치는, 자력 인가 수단과; 상기 자력 인가 수단이 상측면에 설치되는 상판부; 상기 상판부와 일정 거리를 두고 하부에 위치하며, 상측면에 분리하고자 하는 마그네틱 비드가 결합된 특정 세포가 혼합되어 있는 세포 혼합액을 수용하는 세포 혼합액 수용부를 구비하는 하판부; 상기 하판부에 결합되어, 상판부로 다가가게 하판부를 상부로 이동시키거나 또는 상판부에서 멀어지게 하판부를 하부로 이동시키는 하판부 이동수단; 및, 상기 하판부 이동 수단을 상기 세포 혼합액 수용부에 수용된 세포 혼합액이 상기 상판부와 하판부 사이에서 층이 형성되게 하판부를 상판부에 다가가도록 제어하는 한편, 상기 하판부 이동 수단을 상기 상판부와 하판부 사이에 형성된 세포 혼합액 층에 상기 자력 인가 수단에서 인가되는 자력에 의해 상기 특정 세포가 세포 혼합

액 층의 상부로 이동되면서 이와 함께 중력에 의해 세포 혼합액 층의 하부로 이동된 특정 세포 이외의 나머지를 특정 세포로부터 완전히 분리되게 하판부를 다시 상판부에서 멀어지도록 제어하는 제어부;를 포함하는 것을 특징으로 한다.

<21> 바람직하게는, 상기 제어부가, 상기 세포 혼합액 층이 형성되는 상기 상판부와 하판부 사이의 이격 거리를 조절하여 상기 특정 세포의 분리가 최적화되도록 상기 하판부 이동 수단을 제어하게 하여도 좋다.

<22> 바람직하게는, 상기 제어부가, 상기 세포 혼합액 층의 온도 유지, 습도 및 생체 가스 유입 등의 조절을 통해 최적 환경을 유지시키도록 제어하게 하여도 좋다.

<23> 또한, 상기의 목적을 달성하기 위해 이 발명의 세포 분리 방법은, 하판부의 상측면에 형성된 세포 혼합액 수용부에 수용된 분리하고자 하는 마그네틱 비드가 결합된 특정 세포가 혼합되어 있는 세포 혼합액을, 상기 하판부와 일정 거리를 두고 상부에 위치하는 상판부로 하판부가 다가가게 이동하여 세포 혼합액 층으로 형성시키는 단계와; 상기 단계에서 상기 상판부와 하판부 사이에 형성된 세포 혼합액 층의 상판부 측에서 인가되는 자력에 의해 세포 혼합액 층의 상부로 특정 세포가 이동하면서 이와 함께 중력에 의해 세포 혼합액 층의 하부로 이동된 특정 세포 이외의 나머지를, 상기 상판부로부터 하판부가 멀어지게 이동하여 상기 세포 혼합액 층의 상부로 이동된 특정 세포와 분리시키는 단계;로 이루어지는 것을 특징으로 한다.

<24> 바람직하게는, 상기 세포 혼합액 층을 형성시키는 단계가, 상기 세포 혼합

액 층이 형성되는 상기 상판부와 하판부 사이의 이격 거리를 조절하여 상기 특정 세포의 분리가 최적화되도록 하여도 좋다.

<25> 이하에서, 이 발명의 실시 예에 따른 층 형태의 세포 혼합액에 자력을 인가하여 특정 세포를 분리하는 장치 및 방법에 대해 첨부된 도면을 참조하여 상세하게 설명하면 다음과 같다.

<26> 도 2는, 이 발명의 실시 예에 따른 세포 혼합액 층에 자력을 인가하여 마그네틱 비드가 결합된 특정 세포를 분리하는 장치를 개략적으로 도시한 것이고, 도 3a 내지 도 3f는 도 2의 장치를 사용하여 세포 혼합액으로부터 특정 세포를 분리하는 과정을 개념적으로 도시한 것이다.

<27> 이 발명의 실시 예에 따른 세포 분리 장치(10)는, 상판부(11)와 하판부(12) 및 하판부 이동 수단(16)이 내부에 위치하는, 개폐 가능한 챔버(18)와, 상기 하판부 이동 수단(16)을 제어하는 한편 상기 챔버(18) 내의 상판부(11)와 하판부(12) 사이에 형성되는 세포 혼합액 층의 온도를 4℃로 유지하고, 습도 및 O₂, CO₂ 와 같은 생체 가스의 유입을 조절하여 상기 세포가 생존하는데 최적의 환경을 유지시키도록 상기 챔버(18)의 일 측에 설치되는 제어부(17) 및, 이외에도 하부에 상기 제어부(17)의 제어 상태를 조작할 수 있게 설치되는 제어 패널이나 전면에 현재 작동 상태를 외부에 표시하기 위해 설치된 디스플레이 등으로 이루어진다.

<28> 상기 상판부(11)는, 자력을 인가하기 위한 자석(13)이 상측면에 설치되는데, 상기 자석(13)은 영구자석이나 전자석 또는 외부 자력 인가에 의해 자성을 띌 수 있는 자성체 등으로 필요에 따라 선택되어질 수 있다.

<29> 또한, 상기 상판부(11)는 분리하고자 하는 마그네틱 비드가 결합된 특정 세포가 혼합되어 있는 세포 혼합액(20)이 층을 형성하면서 흡착되는 부분을 하측면에 형성시킬 수 있다.

<30> 이 경우, 상기 상판부(11)의 세포 혼합액(20)이 층을 형성하면서 흡착되는 부분은, 상기 세포 혼합액(20)이 외부로 흘러나가지 않고 그 내부에 수용시키기 위해, 상기 상판부(11)가 친수성 물질이면 상기 세포 혼합액(20)이 흡착되는 주위를 둘러싸면서 경계를 형성하는 소수성 물질의 세포 혼합액 수용 경계 띠(14)를 구비하고, 상기 상판부(11)가 소수성 물질이면 해당 부분을 친수성 물질로 코팅하여 형성되는 수용 면을 구비한다.

<31> 상기 하판부(12)는, 상기 상판부(11)와 일정 거리를 두고 하부에 위치하며, 상측면에 상기 세포 혼합액(20)을 수용하는 세포 혼합액 수용부(15)를 구비한다.

<32> 상기 하판부(12)의 상기 세포 혼합액 수용부(15)는, 상기 세포 혼합액(20)이 주입 수용되는 부분으로 상기 세포 혼합액(20)을 수용하는데 있어서 흡착 면적을 최대로 하여 흡착력을 극대화하기 위해 수직 벽면을 내부로 가면서 경사지게 흡의 형태로 형성시킬 수 있다.

<33> 이 경우, 상기 흡의 내부는 상기 하판부(12)가 소수성 물질이면 해당 부분을 친수성 물질로 코팅하여 세포 혼합액(20)이 흡착되도록 한다.

<34> 여기서, 세포 혼합액 층을 형성하는데 있어 상부층과 하부층의 크기를 결정하는 상기 상판부(11)의 세포 혼합액이 흡착되는 부분과 상기 하판부(12)의 세포 혼합액 수용부(15)의 크기에 따라 분리하고자 하는 세포의 양을 결정할 수 있으며,

종래 물방울 형태의 세포 분리 장치에서 물방울의 특성상 소량의 세포 분리만이 가능했던 것과는 달리, 대용량의 세포 분리가 가능하게 되는 것으로 이 발명의 특징 중의 하나로 된다.

<35> 또한, 상기 하판부(12)의 세포 혼합액 수용부(15)의 크기뿐만 아니라 개수를 다수 개로 형성시키면 한 번에 보다 많은 양의 세포 분리도 가능하게 된다.

<36> 상기 하판부 이동수단(16)은, 상기 하판부(12)의 일 측단이나 양 측단 또는 하측면에 결합되어, 상기 제어부(17)에서 장치 제어 부분의 제어에 의해, 상기 하판부(12)를 상기 상판부(11)로 다가가게 상부로 이동시키거나 또는 상판부(11)에서 멀어지게 하부로 이동시키는데, 상기 하판부(12)를 프론트 로딩 방식으로 인출한 상태에서 상기 세포 혼합액 수용부(15)에 세포 혼합액(20)을 주입 수용하는 경우에는 하판부(12)를 전후로 이동시킨다.

<37> 상기 제어부(17)에서 장치 제어 부분은, 상기 세포 혼합액 수용부(15)에 수용된 세포 혼합액(20)이 상기 상판부(11)와 하판부(12) 사이에서 층이 형성되도록 상기 하판부(12)를 이동시켜 상판부(11)에 다가가게 상기 하판부 이동 수단(16)을 제어하는 한편, 상기 세포 혼합액 층이 형성된 상기 상판부(11)와 하판부(12) 사이의 이격 거리를 상기 하판부(12)를 이동시켜 조절하여 상기 특정 세포의 분리가 최적화되도록 상기 하판부 이동 수단(16)을 제어한다.

<38> 또한, 상기 제어부(17)에서 장치 제어 부분은, 상기 상판부(11)와 하판부(12) 사이에 형성된 세포 혼합액 층에 상기 자석(13)에서 인가되는 자력에 의해 상기 특정 세포가 세포 혼합액 층의 상부로 이동되면서 이와 함께 중력에 의해 세포

혼합액 층의 하부로 이동된 특정 세포 이외의 나머지를 특정 세포로부터 완전히 분리되게 하판부(12)를 하부로 이동시켜 다시 상판부(11)에서 멀어지도록 상기 하판부 이동 수단(16)을 제어한다.

<39> 상기와 같은 구성을 갖는 이 발명의 실시 예에 따른 세포 분리 장치를 사용하여 특정 세포를 분리하는 과정을 도 3a 내지 도 3f를 참조하여 상세하게 설명하면 다음과 같다.

<40> 먼저, 도 3a에 도시되어 있는 바와 같이, 분리하고자 하는 마그네틱 비드(22)가 부착된 특정 세포(21)가 포함된 세포 혼합액(20)을 상기 하판부(12)의 세포 혼합액 수용부(15)에 주입 수용시킨다.

<41> 이 경우, 상기 세포 혼합액 수용부(15)의 수직 벽면은 내부로 경사지면서 향하도록 하여 흡착 면적을 최대로 함으로써 흡착력의 극대화로 인한 보다 많은 양의 세포 혼합액(20) 수용 및 적절한 분리를 가능하게 한다.

<42> 다음으로, 도 3b에 도시되어 있는 바와 같이, 상기 제어부(17)에서 장치 제어 부분의 제어에 의해, 상기 하판부 이동 수단(16)이 이동하면서 상기 하판부(12)를 상부로 이동시켜 상기 세포 혼합액 수용부(15) 내에 주입 수용되어 있는 세포 혼합액(20)이 상기 상판부(11)의 하측면에 흡착되면서 세포 혼합액 층을 형성시킨다.

<43> 이 경우, 상기 상판부(11)가 친수성 물질인 경우 세포 혼합액 수용 경계 띠(14)의 내부에 세포 혼합액(20)이 흡착되면서 세포 혼합액 층을 형성시키게 된다.

<44> 다음으로, 도 3c에 도시되어 있는 바와 같이, 상기 제어부(17)에서 장치 제

어 부분의 제어에 의해, 상기 하판부 이동 수단(16)이 이동하면서 하판부(12)를 하부로 이동시켜 상기 세포 혼합액 층이 형성된 상기 상판부(11)와 하판부(12) 사이의 이격 거리를 조절하여 상기 특정 세포의 분리가 최적화되는 상태를 유지시킨다.

<45> 일반적으로, 특정 세포의 분리는 조절되는 세포 혼합액 층의 상하 폭을, 즉 상판부(11)와 하판부(12)의 이격 거리를 크게 할수록 특정 세포에 가해지는 자력과 특정 세포 이외의 나머지에 가해지는 중력에 의해 확실하게 할 수 있다.

<46> 그러나, 세포 혼합액 층이 형성되고 난 후 다음과 같은 이유에 의해 상판부(11)와 하판부(12)의 이격 거리를 조절하게 된다.

<47> 1) 제조사마다 다른 마그네틱 비드의 성질 (크기, 밀도, 자화 정도) 을 모두 수용할 수 있는 호환성(범용성 확보)을 갖게 하기 위함이다.

<48> 2) 분리하고자 하는 특정 세포 자체의 특성에 적절하게 대처하기 위함이다. 분리하고자 하는 세포 혼합액은 채취된 세포에 따라 특정 세포의 함유 정도 (세포 농도)가 다르다. 예를 들면, "CD45" 라는 항체를 가지는 세포는 80% 이상이 분리하고자 하는 특정 세포로 세포 혼합액에 포함되어 있고, "Ter119" 라는 항체를 가지는 세포는 15% 이상이 분리하고자 하는 특정 세포로 세포 혼합액에 포함되어 있으며, "Sca1" 이나 기타 줄기 세포 항체를 가지는 세포는 1% ~ 0.1% 미만이 분리하고자 하는 특정 세포로 세포 혼합액에 포함되어 있다.

<49> 즉, 어떠한 세포를 분리하고자 하는가에 따라 특성이 고려되어야 하는데, 0.1% 미만인 경우에 보통과 같은 높이를 유지하면 분리하고자 하는 특정 세포의 표

면에 마그네틱 비드가 미약하게 붙어 있을 경우에는 자력을 인가하여도 세포 혼합액 층의 상부로 올라오지 않을 수 있어 상기 상판부(11)와 하판부(12)를 더 가깝게 위치시켜 자력이 더 강하게 인가되도록 조정해 주는 것이다.

<50> 3) 특정 세포가 혼합된 세포 혼합액에는 특정 세포 이외에 세포들의 살아있는 상태를 유지시키기 위해 세포 혼합액(20)에 영양 물질(nutrient) 성분이 첨가되는데 이러한 물질들에 의해 점성(Viscosity) 정도가 결정되므로 분리에 사용될 세포에 따라 그 점성도가 조금씩 차이가 있을 수 있고, 그렇게 되면 흡착 성질을 이용하여 상판부(11)와 하판부(12)에 층이 만들어지는 특성이 조금 차이가 있을 수 있으므로 그러한 미세적 차이도 반영하기 위함이다.

<51> 4) 사용되어지는 세포 분리용 칩으로 상판부(11)와 하판부(12)의 재질이 친수성(hydrophilic)인가 소수성(hydrophobic)인가에 따라 흡착 정도가 달라지는 것을 조절하기 위함이다. 즉, 친수성 재질이면 세포 혼합액(20)이 친수성에 가까울수록 흡착력이 서로 상응하게 작용하여 흡착 상태가 강하게 작용하지만, 소수성 재질에 가까워질수록 물과 기름이 서로 밀어내듯이, 소수성 칩과 친수성 세포 혼합액은 흡착 상태가 약해지게 된다.

<52> 5) 분리 환경이 건조할 경우 세포 혼합액 자체에 수분 증발을 야기하게 되고, 그로 인해 그 용액의 점성도에 차이가 발생할 수 있어 이를 조절해 주기 위함이다. 즉, 이격 거리가 길면 공기와 접해지는 세포 혼합액의 노출면이 넓어져 증발 속도가 빨라지므로 가능하면 이격 거리가 작을수록 좋다고 할 수 있다.

<53> 다음으로, 도 3d에 도시되어 있는 바와 같이, 상판부(11)와 하판부(12)의

이격 거리가 최적의 상태로 조절된 상태의 세포 혼합액 층에 상기 자석(13)에서 자력이 인가되면서 상기 마그네틱 비드(22)가 결합된 특정 세포(21)를 상판부(11)로 이동시킨다.

<54> 즉, 상기 특정 세포(21)에 인력을 가해 특정 세포(21)가 세포 혼합액 층의 내부에서 상기 상판부(11) 쪽으로 이동하게 되고, 특정 세포 이외의 나머지는 중력에 의해 상기 세포 혼합액 층의 내부에서 하판부(12) 쪽으로 이동하게 됨으로써 세포 혼합액 층의 내부에서 분리가 일어난다.

<55> 이 경우, 상기 세포 혼합액 층에 인가되는 자력의 세기는 상기 마그네틱 비드가 결합되어 있는 특정 세포에 작용하는 중력의 크기를 극복할 수 있을 정도의 크기이다.

<56> 다음으로, 도 3e에 도시되어 있는 바와 같이, 상기 제어부(17)에서 장치 제어 부분의 제어에 의해, 상기 상판부(11)와 하판부(12) 사이에 형성된 세포 혼합액 층의 내부에서 하판부(12) 쪽으로 이동된 특정 세포 이외의 나머지를 특정 세포로부터 완전히 분리되게 하판부(12)가 다시 상판부(11)에서 멀어지도록 상기 하판부 이동 수단(16)을 이동시킨다.

<57> 그러면, 도 3f에 도시되어 있는 바와 같이, 상기 하판부(12)를 이동시켜 상판부(11)쪽으로 이동한 특정 세포 이외의 나머지는 완전히 분리되어지므로, 이후 특정 세포를 채취하여 이용하게 된다.

<58> 또한, 상기 제어부(17)에서 최적 환경 유지 부분의 제어에 의해, 상기 챔버 내부의 세포 혼합액 층의 온도를 4℃로 유지하고, 습도 및 O₂, CO₂ 와 같은 생체

가스의 유입을 조절하여 상기 세포가 생존하는데 최적의 환경을 유지시키도록 한다.

<59> 그리고, 상기 상판부(11)에 부착되어 있는 특정 세포의 농축(분리 효율을 높이는)을 하는 경우에는, 상기의 세포 분리 과정을 한 번 수행한 후 하판부(12)만을 분리시켜 상기 세포 혼합액 수용부(15)에 세포들이 포함되어 있지 않은 버퍼 수용액을 주입 수용하고, 상기 제어부(17)의 제어에 의해 상기 하판부 이동 수단(16)을, 이격 거리 조절을 위해 보통 1회 실시하던 것과 달리 상하로 다수 회 반복 이동하여 세포 혼합액 층을 흔들어줌으로써 상기 자석(13)에 의해 가볍게 붙어 있는 세포들을 최대한 균질화시킨다.

<60> 이때, 상기의 균질화시키는 과정 중에 필요 없는 세포(보통 상기 자석(13)에 반응하는 특정 세포와 엉겨 붙은 채 상기 상판부(11)에 붙어 있는 세포)는 한번 더 하판부(12) 쪽으로 이동하면서, 상기 하판부(12) 쪽에 포함되어 있던 특정 세포(마그네틱 비드(22)가 붙어있는데도 상기 하판부(12)에 가라앉은 다른 세포들에 눌러 올라 갈 수 없는 상태의 특정 세포)가 다시 상판부(11) 쪽으로 이동하게 된다.

<61> 이러한 세포 농축 과정을 수 차례 반복해 줌으로써 분리하고자 하는 특정 세포의 농도를 높여줄 수 있게 된다.

<62> 마찬가지로, 상기의 균질화시키는 과정은, 상기 하판부(12)쪽으로 이동한 특정 세포 이외의 나머지 세포들에 대해서도 적용할 수 있다.

<63> 이 경우, 상기 하판부(12)는 분리하지 않고 상판부(11)만 분리시키고 상기 하판부(12)의 세포 혼합액 수용부(15)에 세포들이 포함되어 있지 않은 버퍼 수용액

을 적정 양 주입하여 위의 과정을 수 차례 반복 수행하는데, 상기 세포 혼합액 수용부(15)에는 특정 세포가 분리되고 난 후 남은 세포들에 극소량으로 존재해 있는 특정 세포들을 다시 한번 상판부(11)로 이동시켜 줌으로써, 상기 하판부(12)에 존재해 있는 특정 세포 이외의 세포들의 농도를 높여준다. 이로부터, 마그네틱 비드가 붙어있지 않은(상기 하판부(12)의 바닥에 가라앉아 있는) 세포를 타겟으로 고려할 경우에 농도를 높일 수 있게되는 것이다.

<64> 이 발명은 상기의 실시 예에 한정되지 않으며, 특허청구범위에 기재되는 발명의 범위 내에서 다양한 변형이 가능하고, 이러한 변형도 이 발명의 범위 내에 포함된다.

【발명의 효과】

<65> 이상에서 상세하게 설명한 바와 같이, 이 발명의 세포 혼합액 층에 자력을 인가하여 세포를 분리하는 장치 및 방법에 의하면, 분리하고자 하는 특정 세포가 혼합되어 있는 세포 혼합액을 하나의 층으로 형성시키고, 상기 세포 혼합액 층의 상부에서 자력을 가해 마그네틱 비드가 붙은 특정 세포가 상부로 이동하게 되면서 상기 특정 세포 이외의 나머지를 중력에 의해 상기 세포 혼합액 층의 하부로 이동시켜 분리되게 함으로써, 간단한 구조를 가지는 칩 형태의 장치로 구현하여 낮은 비용으로 대량의 세포 분리를 가능하게 하며, 또한 분리 공정도 간단하여 신속 간편하게 그리고 하판부의 세포 혼합액이 수용된 상태이므로 외란이 최소화되어 안정적이고 신뢰성 있는 세포 분리를 효율 높게 할 수 있는 효과가 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

자력 인가 수단과;

상기 자력 인가 수단이 상측면에 설치되는 상판부;

상기 상판부와 일정 거리를 두고 하부에 위치하며, 상측면에 분리하고자 하는 마그네틱 비드가 결합된 특정 세포가 혼합되어 있는 세포 혼합액을 수용하는 세포 혼합액 수용부를 구비하는 하판부;

상기 하판부에 결합되어, 상판부로 다가가게 하판부를 상부로 이동시키거나 또는 상판부에서 멀어지게 하판부를 하부로 이동시키는 하판부 이동수단; 및,

상기 하판부 이동 수단을 상기 세포 혼합액 수용부에 수용된 세포 혼합액이 상기 상판부와 하판부 사이에서 층이 형성되게 하판부를 상판부에 다가가도록 제어하는 한편, 상기 하판부 이동 수단을 상기 상판부와 하판부 사이에 형성된 세포 혼합액 층에 상기 자력 인가 수단에서 인가되는 자력에 의해 상기 특정 세포가 세포 혼합액 층의 상부로 이동되면서 이와 함께 중력에 의해 세포 혼합액 층의 하부로 이동된 특정 세포 이외의 나머지를 특정 세포로부터 완전히 분리되게 하판부를 다시 상판부에서 멀어지도록 제어하는 제어부;를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 혼합액 층에 자력을 인가하여 세포를 분리하는 장치.

【청구항 2】

제 1항에 있어서,

상기 제어부는, 상기 세포 혼합액 층이 형성되는 상기 상판부와 하판부 사이의 이격 거리를 조절하여 상기 특정 세포의 분리가 최적화되도록 상기 하판부 이동 수단을 제어하는 것을 특징으로 하는 세포 혼합액 층에 자력을 인가하여 세포를 분리하는 장치.

【청구항 3】

제 2항에 있어서,

상기 제어부는, 상기 세포 혼합액 층의 온도 유지, 습도 및 생체 가스 유입 등의 조절을 통해 최적 환경을 유지시키게 제어하는 것을 특징으로 하는 세포 혼합액 층에 자력을 인가하여 세포를 분리하는 장치.

【청구항 4】

하판부의 상측면에 형성된 세포 혼합액 수용부에 수용된 분리하고자 하는 마그네틱 비드가 결합된 특정 세포가 혼합되어 있는 세포 혼합액을, 상기 하판부와 일정 거리를 두고 상부에 위치하는 상판부로 하판부가 다가가게 이동하여 세포 혼합액 층으로 형성시키는 단계와;

상기 단계에서 상기 상판부와 하판부 사이에 형성된 세포 혼합액 층의 상판

부 측에서 인가되는 자력에 의해 세포 혼합액 층의 상부로 특정 세포가 이동하면서 이와 함께 중력에 의해 세포 혼합액 층의 하부로 이동된 특정 세포 이외의 나머지를, 상기 상판부로부터 하판부가 멀어지게 이동하여 상기 세포 혼합액 층의 상부로 이동된 특정 세포와 분리시키는 단계;로 이루어지는 것을 특징으로 하는 세포 혼합액 층에 자력을 인가하여 세포를 분리하는 방법.

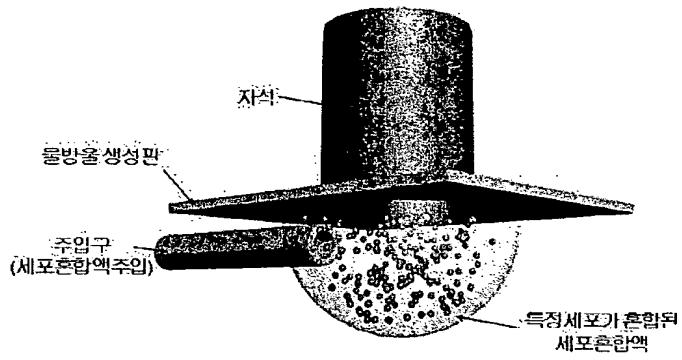
【청구항 5】

제 4항에 있어서,

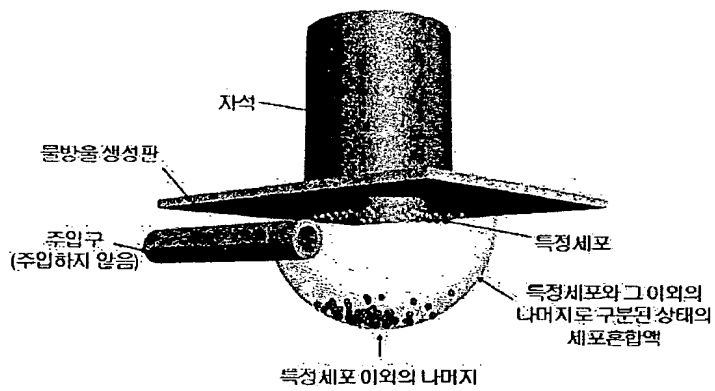
상기 세포 혼합액 층을 형성시키는 단계는, 상기 세포 혼합액 층이 형성되는 상기 상판부와 하판부 사이의 이격 거리를 조절하여 상기 특정 세포의 분리가 최적화되도록 하는 것을 특징으로 하는 세포 혼합액 층에 자력을 인가하여 세포를 분리하는 방법.

【도면】

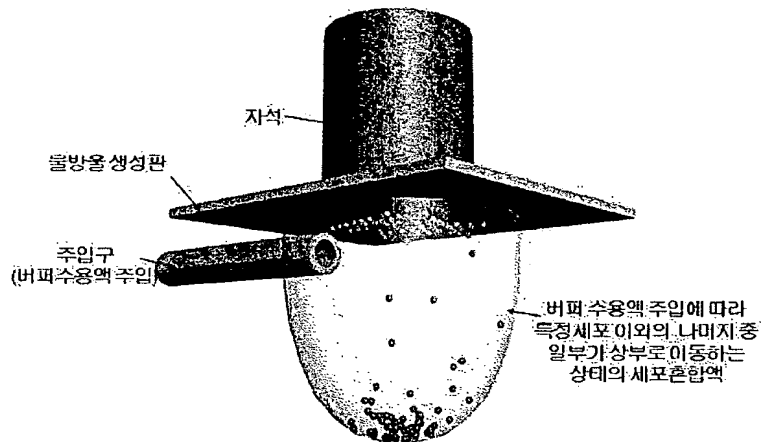
【도 1a】



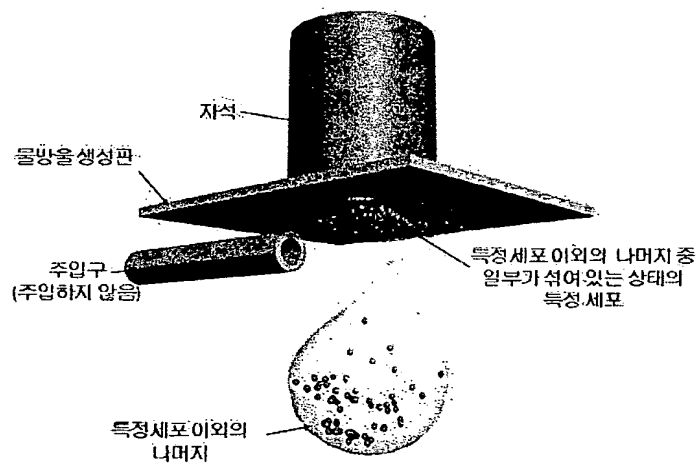
【도 1b】



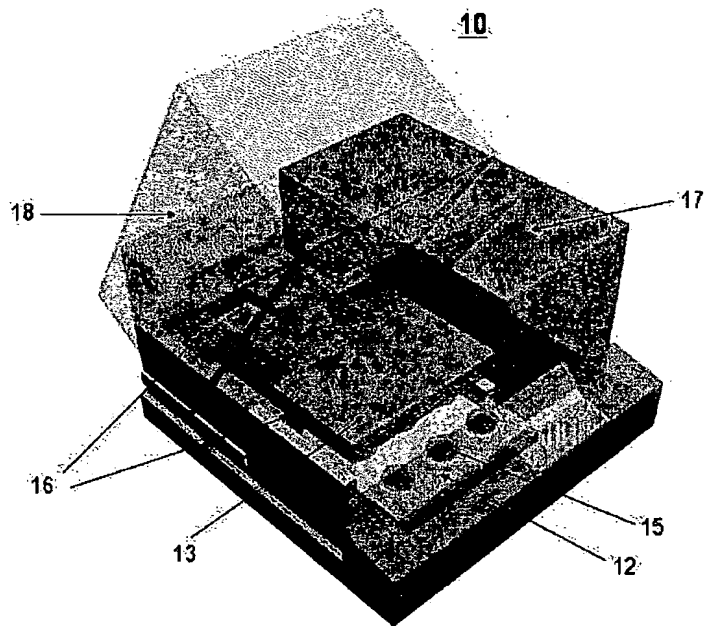
【도 1c】



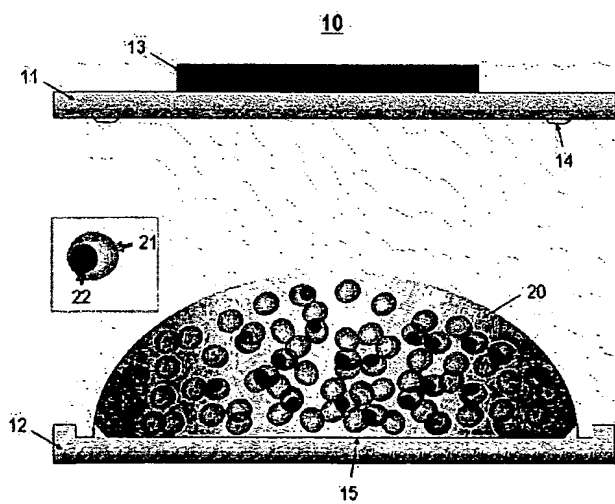
【도 1d】



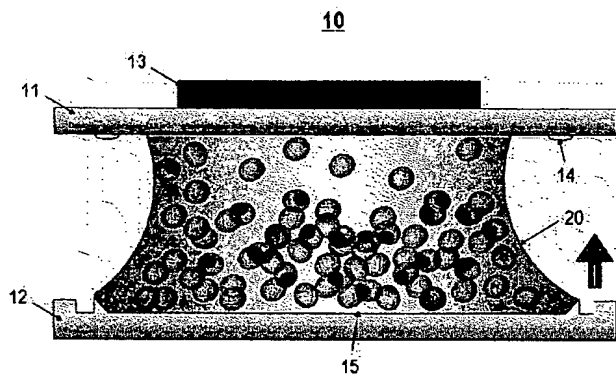
【도 2】



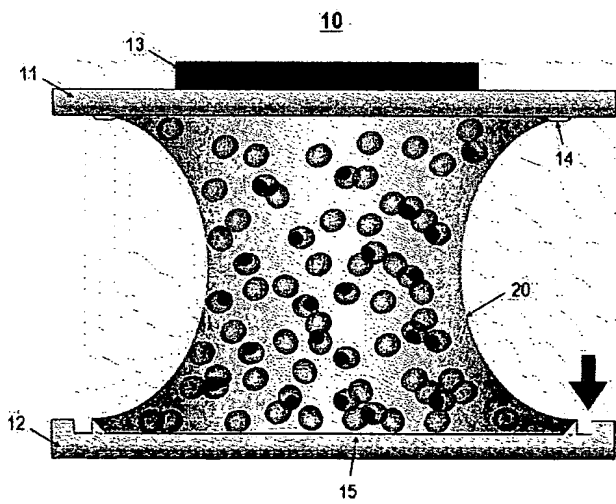
【도 3a】



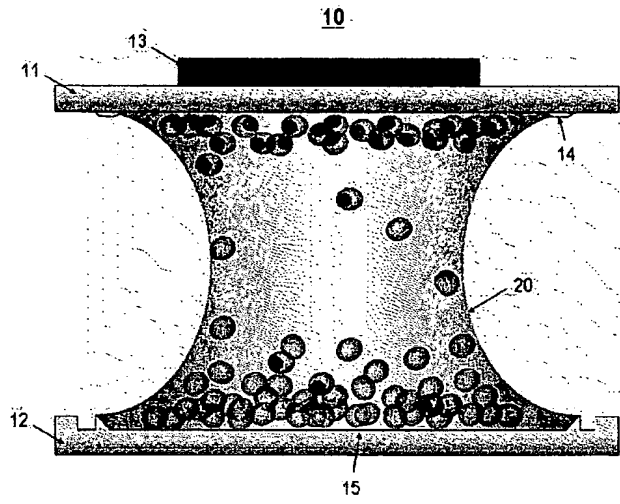
【도 3b】



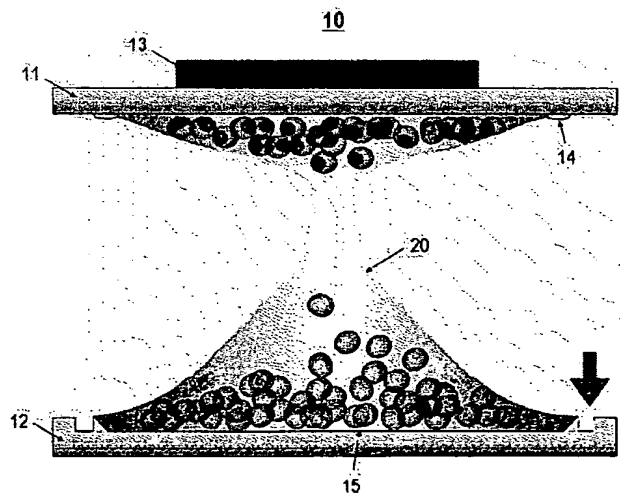
【도 3c】



【도 3d】



【도 3e】



【도 3f】

